

A-5. 법랑기질유도체를 도포한 타이태늄 표면에서 조골세포의 증식 및 분화에 대한 법랑기질유도체의 영향

박상현, 이용무, 구 영, 류인철, 정종평, 한수부

서울대학교 치과대학 치주과학교실

연구배경

치주치료의 가장 중요한 목적은 상실된 치주조직의 형태적, 기능적 재건이다. 치주 질환으로 상실된 치주조직을 회복시키기 위해서 다양한 재생술식이 사용되고 있다. 법랑기질유도체(enamel matrix derivative: EMD)는 일반적으로 이용할 수 있는 재생 술식들과 관련되는 단점들을 극복하기 위해 최근 치주 영역에 소개되었다. 지난 몇 년 동안의 골내낭의 결손부 치료에 법랑기질유도체를 이용한 유도재 생 술식의 축적된 연구들은 통상적인 치주 수술후 법랑기질유도체를 처리하면 처치하지 않았을 때의 결과보다 좋은 결과를 보고하였다. 여러 가지 골내낭에 대한 임상연구에서도 좋은 치주조직 재생을 보 이고 있다는 보고가 많이 나오고 있다. 최근에는 발거된 치아의 대용으로 타이태늄으로 만들어진 치아 매식체를 많이 사용하고 있는데 수술과정이나 수술 후에 염증의 영향으로 매식체 주위염이 발생한다. 매식체 주위염의 치료에는 여러 방법들이 시도되고 있지만 효과적인 방법이 거의 없는 실정이다.

연구방법 및 재료

이 연구에서는 법랑기질유도체가 타이태늄 표면에서의 조골세포의 증식 및 분화에 미치는 효과를 알 칼리성인산분해효소의 활성도와 alkaline phosphatase, osteopontin, bone sialoprotein, BMP-2, collagen type I 등 골형성관련 특이단백질들의 mRNA 발현을 통해 알아보려고 했다. 직경 25mm 두께 1mm의 원형 타이태늄 디스크를 제작하였다. 실험군으론 타이태늄 디스크에 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 법랑기질 유도체(Emdogain[®], BIORA, sweden)를, 양성대조군으론 25, 50, 100, 200 ng/ml 농도의 rhBMP-2(R&D Systems, USA)를 코팅하였다. 타이태늄 디스크에 아무것도 사용하지 않고 세포만 배양한 군을 음성대 조군으로 사용했다.

조골양세포인 Saos-2 (ATCC HTB-85) 세포를 타이태늄 표면에 배양 후 1일, 6 일째에 세포의 수를 측 정하였으며 알칼리성인산효소의 활성도를 측정하였다. 배양된 Saos-2 세포를 2×10^5 의 세포를 넣은 후 2시간, 8시간 후에 발현된 mRNA의 양을 측정하기 위하여 역전사효소-중합효소연쇄반응법을 이용하였 다. 세포-시편 혼합체의 조직학적 관찰을 위하여 배양 후 2시간에 시편내의 세포부착 및 증식의 3차원 적 형태를 주사전자현미경(SEM)하에서 관찰하였다.

연구결과

배양 후 6일에서 EMD100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 군이 EMD50, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 두 군보다 유의성 있게 세포수가 많았고 음 성 대조군과 비교시 EMD25, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 군과 BMP100, 200 ng/ml 군은 유의성이 있게 높았으며, 1일

보다 6일에서는 모든 군에서 유의성이 있게 높았다. EMD100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 군과 BMP100, 200 ng/ml 군에서 1일보다 6일에서 알칼리성인산분해효소의 활성도가 유의성이 있게 높았으며, EMD군과 BMP군 모두 농도가 높을수록 세포가 타이태늄 디스크에 더 잘 부착되어 있는 양상을 보였다. 역전사효소-중합효소 연쇄반응의 결과는 alkaline phosphatase, collagen type I, osteopontin, bone sialoprotein의 유전자 발현이 2시간, 8시간에서 EMD200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 군과 BMP100 ng/ml 군에서 mRNA를 발현함을 보였다.

결론

이상의 결과는 범랑기질유도체가 피복된 타이태늄에서 배양된 조골세포에의 범랑기질유도체의 효과는 알칼리성인산분해효소의 활성도와 골형성관련 특이단백질의 mRNA 발현함을 보이고 있고 이는 골 조직 재생의 측면에서 rhBMP-2와 같이 조골세포의 분화 및 증식을 촉진함을 보여주는 것이다.